

DOI 10.29254/2077-4214-2018-4-1-146-107-111

УДК 617.735-002-02:616.633.66+616.155.2]-076.5

¹Могілевський С. Ю., ¹Панченко Ю. О., ²Зяблицев С. В.**РОЛЬ ПОРУШЕНЬ РЕАКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ В ПРОГРЕСУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ МАКУЛОПАТІЇ ТА ВИНИКНЕННІ ДІАБЕТИЧНОГО МАКУЛЯРНОГО НАБРЯКУ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 2 ТИПУ**¹Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (м. Київ)²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)

sergey.mogilevskyy@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом НДР кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика «Діагностика та лікування порушень оптичної системи, судинних та дистрофічних змін органу зору» (№ державної реєстрації 0115U002167, 2015-2017 рр.).

Вступ. Загально визнаною точкою зору стосовно патогенезу діабетичного макулярного набряку (ДМН) вважається мультифакторний каскад подій в сітківці ока, індукованих патогенетичними чинниками цукрового діабету (ЦД) і, в першу чергу, розвиток діабетичної макулопатії (ДМП) [1]. Обговорюється роль кінцевих продуктів глікування (AGE) [2], фактора росту судинного ендотелію (VEGF) [3] і ендотеліну [4], активації симпато-адреналової (САС) [5] та ренин-ангіотензинової (РАС) [6] систем, запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу [7] в зростанні проникливості судин гемо-ретинального бар'єру (ГРБ).

Останні дослідження акцентують увагу на механізмах запалення в патогенезі ДМН [8]. Хоча існує велика кількість публікацій стосовно впливу запалення на гемато-ретинальний бар'єр (ГРБ), механізми індукції і підтримки самого запалення лишаються не вивченими. В цьому контексті особливий інтерес викликає реалізація запалення при діабетичній ретинопатії (ДР) за участю тромбоцитів (Тц), які здатні інтегрувати два процеси – тромбоз і запалення в сітківці ока. Існує три сценарії, за якими Тц можуть взаємодіяти з лейкоцитами [9]: перший, під час геморагії, коли Тц прикріплюються і активуються на білках субендотеліального матриксу, після чого лейкоцити рекрутуються до тромбу; другий – Тц прикріплюються і активуються на функціонально активних ендотеліальних клітинах, після чого лейкоцити мігрують через стінку капілярів; третій – адгезія між Тц та лейкоцитами відбувається в циркулюючій крові, що призводить до утворення агрегатів взаємодіючих з ендотеліальними клітинами. У всіх випадках стає можливою адгезія лейкоцитів до ендотелію, та зростання проникливості стінки судин [10]. Вплив Тц не тільки на ендотелій, але й інші клітини судинної стінки підтверджують [11].

У цьому плані лишаються не з'ясованими механізми стимуляції самих Тц при запаленні, насамперед – роль у цьому процесі нейтрофілів, які секретують потужний медіатор запалення – фактор активації Тц (ФАТ) [12]. ФАТ є фосфоліпідним медіатором, який активує різні типи клітин (нейтрофіли, моноцити, Т-лімфоцити, еозинофіли, базофіли) та викликає секрецію гранул і агрегацію Тц. Ефект обумовлений зв'язуванням ФАТ з його рецептором на поверхні клітин, активацією Gq-білку і утворенням інозитол-

3-фосфату, що супроводжується підвищенням рівня Ca²⁺ [13]. Логічно припустити, що патогенетичні фактори ЦД є одночасно чинниками прогресії ДМП при непроліферативній ДР (НПДР) та розвитком ДМН. У попередніх дослідженнях нами вже були вивчені дані щодо функціонального стану Тц у хворих на ЦД 2 типу [14,15] та за наявності непроліферативної ДР [16].

Мета дослідження – з'ясувати реактивність Тц при прогресуванні ДМП при помірній та важкій стадії НПДР та за умов розвитку ДМН.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження носило проспективний характер і включало 29 хворих (29 очей) із ДМП при ЦД 2 типу, у яких за результатами клініко-інструментального обстеження та у відповідності до класифікації ETDRS (1991) була виявлена помірна (18 хворих, 18 очей) і важка (11 пацієнтів, 11 очей) стадії НПДР. ДМП встановлювали при наявності специфічних діабетичних змін сітківки в макулярній області: мікроаневризми, геморагії, інтратетинальних мікросудинних аномалій, вітрео-ретинальної судинної проліферації. Рівень тяжкості ДМП встановлювали відповідно до Міжнародної клінічної шкали Американської академії офтальмології (2002). ДМН встановлювали при збільшенні товщини сітківки більше значень нормативної бази даних по полях ETDRS програмного забезпечення спектрально-нодомної ОКТ (зазначалося кольоровою шкалою, що підтверджувало збільшення товщини сітківки за межі норми – жовтим, p<0,05, або червоним кольором, p<0,01).

Всім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, що включають візіометрію, пневмотонометрію, периметрію, гоніоскопію, кераторефрактометрію. Офтальмоскопія виконувалася за допомогою асферичної лінзи Volk Super /Field (NC USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана. Спектрально-нодомна оптична когерентна томографія (ОКТ) проводилася на приладі Optopoltechnology, SOCT, Copernicus REVO (протокол Retina3D, RetinaRaster); також використовувалася ОКТ в режимі «Ангіо» (протокол RetinaAngio, wide 6x6 mm). Дослідження очного дна проводили на фундус-камері з фотографуванням в 7 стандартних полях відповідно до модифікованої ETDRS системи клінічних ознак AirlineHouse. Флуоресцентну ангіографію (ФАГ) виконували за показаннями (у разі підозри на приховану неоваскуляризацію, а також у разі невідповідності зорових функцій офтальмоскопічним змінам в макулярній області або даним ОКТ).

Тц виділяли шляхом центрифугування із цитратної периферичної крові пацієнтів і використовували для оцінки функціональної активності рецепторів. В

Таблиця 1. Розбіжності індукованої АТц (%) при ДМП у хворих з помірною і важкою стадіями НПДР

Індуктор АТц	Помірна стадія, n=18 (III стадія стосовно ETDRS)		Важка стадія, n=11 (IV стадія стосовно ETDRS)	
	Me	Q ₁ ÷Q _{III}	Me	Q ₁ ÷Q _{III}
Анг-2 (1,0 мкМ)	71,50	69,0-74,0	70,0	65,0-79,0
АДФ (2,5 мкМ)	53,0	52,0-55,0	70,0***	69,0-73,0
Колаген (1,0 мг/мл)	61,0	57,0-74,0	65,0	60,0-75,0
ФАТ (75,0 мкМ)	62,0	60,0-64,0	63,0	60,0-67,0
Адреналін (2,5 мкМ)	78,0	76,0-79,0	60,0***	76,0-79,0

Примітки: ** – вірогідність розбіжностей АТц при ДМП у хворих з важкою стадією НПДР стосовно помірної стадії на рівні $p < 0,01$; *** – на рівні $p < 0,001$.

дослідженні застосовували агоністи, що залучені у патогенез ЦД, зокрема: аденозиндіфосфат (АДФ), який забезпечує аутокринну стимуляцію Тц, накопичується в щільних гранулах і підтримує проагрегантний статус Тц; адреналін – гуморальний фактор, рівень якого зростає за умов стрес-реакції внаслідок активації САС; ангіотензин-2 (Анг-2) – гуморальний фактор, рівень якого зростає внаслідок активації РАС; фактор активації тромбоцитів (ФАТ) – паракринний медіатор, що забезпечує стимуляцію Тц, а також взаємодію лейкоцитів і Тц у реалізації запалення; колаген – системний чинник, який відбиває вплив розчиненого колагену в крові та/чи експресії колагену міжклітинного матриксу на тромбоцитарну ланку гемостазу. Агоністи (Sigma, США) використовували в ефективній концентрації (EC_{50}), яка викликала агрегацію Тц (АТц) на рівні $50 \pm 5\%$. Для адреналіну така становила – $2,5 \pm 0,1$ мкМ, колагену – $1,0 \pm 0,03$ мг/мл, Анг-2 – $1,0 \pm 0,06$ мкМ, ФАТ – $75,0 \pm 2,6$ мкМ і АДФ – $2,5 \pm 0,05$ мкМ. Оцінку АТц проводили турбидиметричним методом на аналізаторі ChronoLog (США). У всіх обстежених отримано інформовану згоду пацієнта на участь в дослідженні. При проведенні аналізу використовували статистичний пакет Medcalc. Точкова оцінка величин, що підлягали аналізу, проводилася шляхом розрахунку середнього арифметичного ознаки (\bar{X}) та відповідної стандартної похибки (m), або медіани ознаки (Me). При аналізі міжгрупових

розбіжностей у випадку двох груп застосовували критерій Стьюдента (у випадку нормального закону розподілу, та кількісних характеристик), критерій Вілкоксона (у випадку відмінності закону розподілу від нормального, та кількісних характеристик). У всіх випадках відмінність вважалася статистично значущою при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. У пацієнтів з ДМП при важкій стадії НПДР мала місце гіперреактивність Тц стосовно всіх досліджених агоністів (табл. 1).

У порівнянні з ДМП при помірній стадії НПДР виявлена більша реактивність Тц до АДФ (на $32,1\%$; $p < 0,001$). Реакція Тц на Анг-2, колаген і ФАТ відповідала діапазону гіперреактивності (60-79%) і була порівняною в обох підгрупах.

Таким чином, у хворих з ДМП при помірній і важкій стадіях НПДР виявлені такі загальні риси – гіперреактивність Тц на адреналін, Анг-2, ФАТ і колаген, а отже активація САС і РАС, запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу сполучної тканини є стереотипними механізмами патогенезу ДМП, що забезпечують зростання морфологічних змін на очному дні. До особливостей реактивності Тц хворих з ДМП при важкій стадії НПДР можна віднести зростаючий вплив АДФ. Даний феномен відбивав підвищення стимуляції пуринових рецепторів Тц ($P2Y_{12}$ - і $P2Y_1$ -) внаслідок прогресування порушень пуринергічної системи ока, та зростання тяжкості запалення. У зв'язку з цим функціональна активність пуринових рецепторів Тц може бути інформативним індикатором для прогнозування ДМП при НПДР.

Наступним важливим питанням було з'ясування того, чи відрізнялася функціональна активність Тц при ДМП за умов розвитку ДМН? В даному контексті пацієнтів із помірною стадією НПДР розподілили на дві підгрупи: підгрупу А – 10 (55,6%) хворих, у яких був виявлений ДМН (товщина сітківки в центральній зоні > 300 мкм) та підгрупу Б – 8 (44,4%) хворих, у яких ДМН був відсутнім. Порівняння функціональної активності Тц в межах однієї стадії з наявністю ДМН і без ДМН дозволило відповісти на ключове питання – які фактори патогенезу помірної НПДР впливали на розвиток ДМН, тобто були специфічними для зростання проникливості ГРБ і акумуляції інтерстиціальної рідини в макулі сітківки.

Таблиця 2.

Індукована АТц (%) у хворих з ДМП при помірній стадії НПДР при наявності ДМН (підгрупа А) та без ДМН (підгрупа Б)

Індуктор АТц	Підгрупа А, n=10		Підгрупа Б, n=8	
	$\bar{X} \pm SD$	Min – Max	$\bar{X} \pm SD$	Min – Max
Адреналін (2,5 мкМ)	$76,9 \pm 0,9$	71,0-81,0	$78,4 \pm 0,7$	76,7-81,0
Колаген (1,0 мг/мл)	$57,5 \pm 0,7^{***}$	55,0-62,0	$75,5 \pm 0,9$	73,0-79,0
Анг-2 (1,0 мкМ)	$72,7 \pm 1,0^*$	65,0-77,0	$69,2 \pm 1,0$	65,0-74,0
ФАТ (75,0 мкМ)	$63,1 \pm 1,0$	57,0-67,0	$61,1 \pm 0,8$	58,0-65,0
АДФ (2,5 мкМ)	$53,8 \pm 1,2$	50,0-63,0	$53,2 \pm 0,7$	50,0-56,0

Примітки: * – вірогідність розбіжностей АТц в підгрупі А стосовно такої в підгрупі Б на рівні $p < 0,05$; *** – на рівні $p < 0,001$.

Проведене дослідження показало, що в підгрупі А зберігалася гіперреактивність Тц стосовно чотирьох агоністів: адреналіну, Анг-2, ФАТ і колагену (табл. 2).

Аналіз адренореактивності Тц свідчив, що у всіх обстежених пацієнтів мала місце гіперреактивність α_2 -адренорецепторів. Реакція Тц на адреналін перевищувала таку на Анг-2 на $5,8\%$ ($p = 0,007$), ФАТ – на $21,9\%$ ($p < 0,001$), колагену – на $33,7\%$ ($p < 0,001$), АДФ – на $42,9\%$ ($p < 0,001$). У хворих підгрупи Б також виявлена гіперреактивність α_2 -адренорецепторів. Реакція Тц на адреналін перевищувала таку на колаген на $3,8\%$ ($p = 0,022$), Анг-2 – на $13,3\%$ ($p < 0,001$), ФАТ – на $29,3\%$ ($p < 0,001$), колагену – на $33,7\%$ ($p < 0,001$), АДФ – на $47,4\%$ ($p < 0,001$). Встанов-

Таблиця 3.

Розбіжності індукованої АТц (%) у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР при наявності (підгрупа С) та відсутності ДМН (підгрупа D)

Індуктор АТц	Підгрупа С, n=6		Підгрупа D, n=5	
	Середнє значення, $\bar{X} \pm SD$	Розмах (Min – Max)	Середнє значення, $\bar{x} \pm SD$	Розмах (Min – Max)
Колаген (1,0 мг/мл)	61,0±1,6***	55,0-65,0	75,8±1,4	72,0-80,0
АДФ (2,5 мкМ)	70,7±1,2	66,0-74,0	70,4±1,0	68,0-74,0
Ан-2 (1,0 мкМ)	77,2±1,6***	70,0-81,0	66,2±1,1	64,0-70,0
ФАТ (75,0 мкМ)	65,8±0,8**	63,0-68,0	61,0±0,8	59,0-63,0
Адреналін (2,5 мкМ)	60,8±0,6	59,0-63,0	60,6±0,6	59,0-62,0

Примітки: ** – вірогідність розбіжностей в підгрупах на рівні $p < 0,01$; *** – на рівні $p < 0,001$.

лено, що у хворих з помірною стадією НПДР при наявності ДМН – реакція Тц на Анг-2 перевищувала таку в підгрупі пацієнтів без макулярного набряку на 5,1% ($p < 0,05$), тоді як при відсутності ДМН реактивність Тц до колагену перевищувала таку на 31,3% ($p < 0,001$) стосовно підгрупи хворих без ДМН. Реакція Тц до адреналіну, ФАТ і АДФ статистично значуще не відрізнялася ($p > 0,05$).

Таким чином, у пацієнтів із помірною стадією НПДР був представлений гіперадренореактивний фенотип Тц, який при наявності ДМН характеризувався більш вираженою реакцією Тц на Анг-2, що відбивало суттєве зростання активності РАС (внаслідок чого підвищувалася чутливість АТ₁-рецепторів Тц), тоді як стан міжклітинного матриксу сітківки лишався стабільним. Отже, з трьох встановлених факторів ризику прогресування НПДР (активація САС і РАС та запалення), саме вплив РАС на функціональний стан Тц був причиною розвитку ДМН.

В подальшому, аналогічним чином перерозподілили на дві підгрупи пацієнтів із важкою стадією НПДР: підгрупа С – 6 (54,6%) пацієнтів у яких був виявлений ДМН; підгрупа D – 5 (45,4%) хворих, у яких признаки ДМН були відсутніми. Проведене дослідження показало, що в підгрупі С зберігалася гіперреактивність Тц (АТц > 55%) стосовно всіх агоністів: Анг-2, АДФ, ФАТ, колагену і адреналіну. У всіх обстежених пацієнтів мала місце гіперреактивність АТ₁-рецепторів в діапазоні 70-81%. Встановлено, що реакція Тц на Анг-2 перевищувала реакцію на АДФ на 9,2% ($p = 0,009$), ФАТ на 17,3% ($p < 0,001$), колагену – на 26,6% ($p < 0,001$), адреналіну – на 27% ($p < 0,001$).

У хворих підгрупи D була виявлена гіперреактивність GPVI-рецепторів, але – в діапазоні 72-80% (**табл. 3**). Реакція Тц на колаген перевищувала таку на АДФ на 7,7% ($p = 0,015$), Анг-2 – на 14,5% ($p < 0,001$), ФАТ – на 24,2% ($p < 0,001$), адреналіну – на 25,1% ($p < 0,001$).

Звертало на себе увагу, що у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР при наявності чи відсутності ДМН відрізнялася реакція Тц на колаген, Анг-2 і ФАТ. Так, при наявності ДМН реакція Тц на Анг-2 була вище, ніж така в підгрупі пацієнтів без ДМН на 16,6% ($p < 0,001$) і ФАТ – на 7,9% ($p < 0,01$), тоді як при відсутності ДМН реактивність Тц до колагену перевищувала таку на 24,3% ($p < 0,001$) стосовно групи хворих без ДМН. Реакція Тц до адреналіну і АДФ статистично значуще не відрізнялася.

Отже, порівняння функціональної активності рецепторів Тц в підгрупах С і D свідчило, що Анг-2 і ФАТ відтворювали гіперреактивність Тц і могли бути причиною розвитку ДМН у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР.

Таким чином, проведені дослідження на Тц підтвердили, що активація РАС при ДМП за умов ЦД 2 типу може супроводжуватися зростанням проникливості ГРБ і розвитком ДМН. Дотепер, вважалося, що підвищення рівня Анг-2 через стимуляцію АТ₁-

рецепторів на ендотелії призводило до зростання експресії VEGF, який пошкоджує ГРБ [17]. Отримані дані свідчили, що за умов активації РАС клітинами-мішенями можуть бути і Тц, які мають АТ₁-рецептори до Анг-2. Активовані Тц (а) можуть прямо впливати на ендотелій капілярів ГРБ, оскільки α -гранули містять широкий спектр білків, які впливають на структуру і функцію стінки капілярів [18] та (б) можуть формувати тромбоцитарно-лейкоцитарні агрегати в циркулюючій крові, що забезпечує адгезію лейкоцитів до ендотелію, та опосередковано призводить до зростання проникливості судинної стінки [19]. Загальноновизнано, що адгезія лейкоцитів в мікроциркуляторному руслі сітківки викликає хронічну форму запалення та судинні аномалії, що специфічні для ранніх стадій ДМП при НПДР та супроводжується ДМН [20].

Все частіше Тц згадуються як посередники, так і гравці, що ініціюють і підтримують альтерацію судин. Зокрема, Тц утворюють агрегати з нейтрофілами, щоб модулювати їх здатність виробляти активні радикали кисню [21]. Крім того, Тц вивільняють мікробіцидні фактори та цитокіни, які впливають на імунну відповідь. Також Тц служать тригером для міграції нейтрофілів в нервову тканину, але механізми та специфічні аспекти цих взаємодій залишаються незрозумілими. Можливо у цій взаємодії приймає участь GP1b α рецептор Тц, тому що їх блокада супроводжується зменшенням інвазії нейтрофілів, активованих Тц, при збереженні кількості Тц в кровообігу [22]. Можливо, що відбувається адгезія лейкоцитів до Р-селектину на активованих Тц та ендотеліальних клітинах при цьому відбувається злучення ектодомену Р-селектину в кровообіг. Вважається, що циркулюючий розчинений sP-селектин викликає активацію лейкоцитів, що безпосередньо сприяє запаленню та тромбозу [23].

Таким чином, в прогресуванні ДМП при НПДР і розвитку ДМН приймають участь патогенетичні фактори ЦД 2 типу, проявом чого є зростання функціональної активності Тц, здатних відтворювати тромбоз і запалення в сітківці ока. Це супроводжується акумуляцією рідини в міжклітинному матриксі макули та розвитком ДМП.

Висновки

1. При дослідженні Тц у хворих з ДМП при помірній і важкій стадіях НПДР виявлені загальні риси

– гіперреактивність Тц на адреналін, Анг-2, ФАТ і колаген, а отже активація САС і РАС, запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу сполучної тканини були стереотипними механізмами патогенезу ДМП. Фактором ризику прогресування ДМП були зростання активності пуринергічної системи сітківки ока у хворих із важкою стадією захворювання, відображенням чого було підвищення реактивності аденосинових рецепторів Тц (на 32,1%; $p < 0,001$ у порівнянні із ДМП при помірній стадії НДПР).

2. У хворих з ДМП при важкій стадії НДПР за наявності ДМН реакція Тц на Анг-2 перевищувала таку у пацієнтів без ДМН на 16,6% ($p < 0,001$) і ФАТ – на 7,9% ($p < 0,01$), а отже активація РАС та вираженість запалення, яке реалізувалося при взаємодії Тц і лейкоцитів за допомогою ФАТ, могло бути причиною розвитку ДМН. Гіперреактивність АТ1- та ФАТ-рецепторів Тц може використовуватися для прогнозування розвитку ДМН.

Гіперреактивність АТ1- та ФАТ-рецепторів Тц може використовуватися для прогнозування розвитку ДМН.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження функціонального стану Тц може бути перспективним з точки зору пошуку таргетної терапії при ДМП та ДМН. Крім того, перспективним є розробка критеріїв, заснованих на визначенні функціональної активності Тц, для діагностики та прогнозування розвитку ДМП та ДМН у хворих на ЦД 2 типу.

Література

1. Daruich A, Matet A, Moulin A, Kowalczyk L, Nicolas M, Sellam A, et al. Mechanisms of macular edema: Beyond the surface. *Prog Retin Eye Res.* 2018;63:20-68.
2. Xu J, Chen LJ, Yu J, Wang HJ, Zhang F, Liu Q, et al. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Wu%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&author_uid=30025404. Involvement of advanced glycation end products in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem.* 2018;48(2):705-17.
3. Urias EA, Urias GA, Monickaraj F, McGuire P, Das A. Novel therapeutic targets in diabetic macular edema: Beyond VEGF. *Vision Res.* 2017;139:221-7.
4. Sorrentino FS, Matteini S, Bonifazzi C, Sebastiani A, Parmeggiani F. Diabetic retinopathy and endothelin system: microangiopathy versus endothelial dysfunction. *Eye (Lond).* 2018;32(7):1157-63.
5. Jiang Y, Zhang Q, Steinle JJ. Beta-adrenergic receptor agonist decreases VEGF levels through altered eNOS and PKC signaling in diabetic retina. *Growth Factors.* 2015;33(3):192-9.
6. Kim JH, Kim JH, Yu YS, Cho CS, Kim KW. Blockade of angiotensin II attenuates VEGF-mediated blood-retinal barrier breakdown in diabetic retinopathy. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009;29(3):621-8.
7. Dagher Z, Gerhardinger C, Vaz J, Goodridge M, Tecilizich F, Lorenzi M. The increased transforming growth factor- β signaling induced by diabetes protects retinal vessels. *Am J Pathol.* 2017;187(3):627-38.
8. Imai S, Otsuka T, Naito A, Shimazawa M, Hara H. Triamcinolone acetonide suppresses inflammation and facilitates vascular barrier function in human retinal microvascular endothelial cells. *Curr Neurovasc Res.* 2017;14(3):232-41.
9. Deppermann C, Kubers P. Start a fire, kill the bug: the role of platelets in inflammation and infection. *Innate Immun.* 2018 Jul;26:1753425918789255.
10. Ed Rainger G, Chimen M, Harrison MJ, Yates CM, Harrison P, Watson SP, et al. The role of platelets in the recruitment of leukocytes during vascular disease. *Platelets.* 2015;26(6):507-20.
11. Kazmierczyk R, Kamiński K. The role of platelets in the development and progression of pulmonary arterial hypertension. *Adv Med Sci.* 2018;63(2):312-6.
12. Greco NJ, Arnold JH, O'Dorisio TM, Cataland S, Panganamala RV. Action of platelet-activating factor on type 1 diabetic human platelets. *J Lab Clin Med.* 1985;105(4):410-6.
13. Barinov EF, Sulayeva ON, Gnilyorov AM. Trombotsity. Donetsk: «Novyy Mir», 2012. 316 s. [in Russian].
14. Hudz AS, Mogilevskyy Slu, Maksymtsiv ML. Functional status of platelets in type 2 diabetes patients showing no diabetic fundus changes. *J. ophthalmol.* 2017;1:20-4.
15. Hudz AS, Maksymtsiv ML. Funktsional'nyy stan trombotsytiv i porushennya mikrotsyrkulyatsiyi sitkivky u patsiyentiv, khvorykh na tsukrovyy diabet 2-ho typu. *Arkhiv oftalmolohiyi Ukrayiny.* 2017;2(8):27-32. [in Ukrainian].
16. Hudz AS, Maksymtsiv ML, Zyblytsiv SV, Mohilevskyy SYU. Protrombohenyy fenotyp trombotsytiv u patsiyentiv iz neproliferatyvnoyu diabetichnoyu retynopatiyeu. *Mizhnarodnyy endokrynolohichnyy zhurnal.* 2018;14(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0721.14.2.2018.130558> [in Ukrainian].
17. Lally DR, Shah CP, Heier JS. Vascular endothelial growth factor and diabetic macular edema. *Surv Ophthalmol.* 2016;61(6):759-68.
18. Italiano JE, Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood.* 2008;111(3):1227-33.
19. Blum A, Socca D, Sirchan R. Vascular responsiveness in type 2 diabetes mellitus (T2DM). *QJM.* 2016;11: hcw081.
20. van der Wijk AE, Hughes JM, Klaassen I, Van Noorden CJF, Schlingemann RO. Is leukostasis a crucial step or epiphenomenon in the pathogenesis of diabetic retinopathy? *J Leukoc Biol.* 2017;102(4):993-1001.
21. Gómez-Moreno D, Adrover JM, Hidalgo A. Neutrophils as effectors of vascular inflammation. *Eur J Clin Invest.* 2018;23:e12940.
22. Giles JA, Greenhalgh AD, Denes A, Nieswandt B, Coutts G, McColl BW, et al. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Allan%20SM%5BAuthor%5D&cauthor=true&author_uid=29325217. Neutrophil infiltration to the brain is platelet-dependent, and is reversed by blockade of platelet GPIIb/IIIa. *Immunology.* 2018;154(2):322-8.
23. Panicker SR, Mehta-D'souza P, Zhang N, Klopocki AG, Shao B, McEver RP. Circulating soluble P-selectin must dimerize to promote inflammation and coagulation in mice. *Blood.* 2017;130(2):181-91.

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ РЕАКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ В ПРОГРЕСУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ МАКУЛОПАТІЇ ТА ВИНИКНЕННІ ДІАБЕТИЧНОГО МАКУЛЯРНОГО НАБРЯКУ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 2 ТИПУ

Могілевський С. Ю., Панченко Ю. О., Зяблицев С. В.

Резюме. Мета дослідження – з'ясувати реактивність тромбоцитів (Тц) при прогресуванні діабетичної макулопатії (ДМП) при помірній та важкій стадіях непроліферативної діабетичної ретинопатії (НДПР) та за умов розвитку діабетичного макулярного набряку (ДМН).

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження включало 29 хворих (29 очей) із цукровим діабетом (ЦД) 2 типу у яких за результатами клініко-інструментального обстеження та у відповідності із класифікацією ETDRS виявлені ДМП у хворих з помірною (18 хворих, 18 очей) і важкою (11 хворих, 11 очей) стадіями НДПР. Для дослідження Тц *in vitro* використовували агоністи, що залучені у патогенез ЦД 2 типу: аденосиндифосфат (АДФ), адреналін,

ангіотензин-2 (Анг-2), фактор активації тромбоцитів (ФАТ) і колаген. Оцінку агрегації Тц проводили турбидиметричним методом на аналізаторі ChronoLog (США).

Результати дослідження. У пацієнтів з ДМП при помірній і важкій стадіях НПДР мала місце гіперреактивність Тц стосовно колагену, адреналіну, Анг-2 і ФАТ. Фактором ризику прогресування ДМП було зростання активності пуринергічної системи сітківки ока, відображенням чого було підвищення реактивності аденозинових рецепторів Тц до АДФ. Вираженість активації ренін-ангіотензинової системи і запальної реакції, що проявлялася гіперреактивністю Тц до Анг-2 і ФАТ, була причиною розвитку ДМН.

Висновки. В прогресуванні ДМП приймала участь активація симпато-адреналової та ренін-ангіотензинової систем, запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу сполучної тканини сітківки, проявом чого було зростання функціональної активності Тц, здатних відтворювати тромбоз і запалення в сітківці ока. Гіперреактивність Тц до Анг-2 і ФАТ була причиною розвитку ДМН, а, отже, чутливість AT_1 - та ФАТ-рецепторів Тц може використовуватися для прогнозування розвитку ДМН.

Ключові слова: діабетична макулопатія, діабетичний макулярний набряк, непроліферативна діабетична ретинопатія, агрегація тромбоцитів

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ РЕАКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ В ПРОГРЕСИРОВАНИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ МАКУЛОПАТИИ И ВОЗНИКНОВЕНИИ ДИАБЕТИЧЕСКОГО МАКУЛЯРНОГО ОТЕКА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

Могилевский С. Ю., Панченко Ю. А., Зяблицев С. В.

Резюме. Цель исследования – выяснить реактивность тромбоцитов (Тц) при прогрессировании диабетической макулопатии (ДМП) при умеренной и тяжелой стадиях непролиферативной диабетической ретинопатии (НПДР) и при развитии диабетического макулярного отека (ДМО).

Объект и методы исследования. Исследование включало 29 больных (29 глаз) с сахарным диабетом (СД) 2 типа у которых по результатам клинико-инструментального обследования и в соответствии с классификацией ETDRS обнаружена ДМП при умеренной (18 больных, 18 глаз) и тяжелой (11 больных, 11 глаз) НПДР. Для исследования Тц *in vitro* использовали агонисты, вовлеченные в патогенез СД 2 типа: аденозиндифосфат (АДФ), адреналин, ангиотензин-2 (Анг-2), фактор активации тромбоцитов (ФАТ) и колаген. Оценку агрегации Тц проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США).

Результаты исследования. У пациентов с ДМП при умеренной и тяжелой стадиях НПДР имела место гиперреактивность Тц относительно коллагена, адреналина, Анг-2 и ФАТ. Фактором риска прогрессирования ДМП был рост активности пуринергической системы сетчатки глаза, что проявлялось повышением реактивности аденозиновых рецепторов Тц к АДФ. Выраженность активации ренин-ангиотензиновой системы и воспалительной реакции, которая проявлялась гиперреактивностью Тц в ответ на Анг-2 и ФАТ, была причиной развития ДМН.

Выводы. В прогрессировании ДМП принимала участие активация симпато-адреналовой и ренин-ангиотензиновой систем, воспаление и ремоделирование межклеточного матрикса соединительной ткани сетчатки, проявлением чего был рост функциональной активности Тц, способных воспроизводить тромбоз и воспаление в сетчатке глаза. Гиперреактивность Тц в ответ на Анг-2 и ФАТ была причиной развития ДМН, а, следовательно, чутливість AT_1 - и ФАТ-рецепторів Тц може бути використана для прогнозування розвитку ДМН.

Ключевые слова: диабетическая макулопатия, диабетический макулярный отек, непролиферативная диабетическая ретинопатия, агрегация тромбоцитов.

THE ROLE OF TREATMENT OF THROMBOCYTE REACTIVITY IN THE PROGRESS OF DIABETIC MAKULOPATHY AND THE INITIALIZATION OF THE DIABETIC MACULAR EDEMA IN DIABETES MELLITUS 2 TYPE

Mogilevskyy S. Yu., Panchenko Yu. A., Ziablittsev S. V.

Abstract. The aim of the study was to elucidate the reactivity of platelets (PL) in the progression of diabetic maculopathy (DMP) with moderate and severe stages of non-proliferative diabetic retinopathy (NDPR) and development of diabetic macular edema (DME).

Object and methods of investigation. The study included 29 patients (29 eyes) with diabetes mellitus (DM) of type 2 who, according to the results of the clinical and instrumental examination and according to the ETDRS classification, detected DMP with moderate (18 patients, 18 eyes) and severe (11 patients, 11 eyes) NPDR. For the study of PL *in vitro*, agonists involved in the pathogenesis of DM 2 type: adenosine diphosphate (ADP), epinephrine, angiotensin-2 (Ang-2), platelet activating factor (PAF), and collagen were used *in vitro*. The PL aggregation was evaluated by the turbidimetric method using the ChronoLog analyzer (USA).

Results of the study. In patients with DMP with moderate and severe stages of NPDR, PL hyperreactivity was observed with respect to collagen, epinephrine, Ang-2 and PAF. The risk factor for the progression of DMP was an increase in the activity of the purineergic retinal system, which was manifested by an increase in the reactivity of adenosine receptors to ADP. The severity of the activation of the renin-angiotensin system and the inflammatory response, which was manifested by the hyperreactivity of PL in response to Ang-2 and PAF, was the reason for the development of DME.

Conclusions. In the progression of DMP, activation of sympathetic-adrenal and renin-angiotensin systems, inflammation and remodeling of the intercellular matrix of retinal connective tissue, manifested itself in the growth of PL functional activity, capable of reproducing thrombosis and inflammation in the retina of the eye. Hyperreactivity of PL in response to Ang-2 and PAF was the reason for the development of DME, and, consequently, the sensitivity of AT_1 - and PAF-receptors of PL can be used to predict the development of DME.

Key words: diabetic maculopathy, diabetic macular edema, non-proliferative diabetic retinopathy, platelet aggregation.

Рецензент – проф. Безкоровайна І. М.
Стаття надійшла 03.09.2018 року